

УДК 616.45-091-092.9:604.6:633.34

© Коллектив авторов, 2012.

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ НАДПОЧЕЧНИКОВ САМОК КРЫС ВИСТАР ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В РАЦИОН ГЕННОМОДИФИЦИРОВАННОЙ СОИ

Г.И. Губина-Вакулик, С.А. Денисенко, Т.В. Горбач, Н.Г. Колоусова, Т.М. Попова

Харьковский национальный медицинский университет, патоморфологический сектор ЦНИЛ (зав. – д.м.н., проф. Губина-Вакулик Г.И.), г. Харьков.

MORPHOFUNCTIONAL STATE OF ADRENAL GLAND IN FEMALE RATS WISTAR WITH GENETICALLY MODIFIED SOY INCLUSION IN THE DIET

G.I. Gubina-Vakulik, S.A. Denisenko, T.V. Horbach, N.G. Kolousova, T.M. Popova

SUMMARY

The experiment with the usage of genetically modified soy in the diet of Wistar rats-females during 6 months was done. The group of animals with the usage of non-modified soy was the comparison group. It was revealed that the morphofunctional state of the adrenal gland significantly activated in both groups. In the part of animals of the group with the usage of genetically modified soybean in food morphofunctional activation is accompanied by the exhaustion of endocrine cells proliferative capacity.

МОРФОФУНКЦІЙНИЙ СТАН НАДНІРНИКОВИХ ЗАЛОЗ САМИЦЬ ЩУРІВ ВІСТАР ПРИ ВКЛЮЧЕННІ В РАЦІОН ГЕННОМОДІФІКОВАНОЇ СОЇ

Г.І. Губіна-Вакулик, С.А. Денисенко, Т.В. Горбач, Н.Г. Колоусова, Т.М. Попова

РЕЗЮМЕ

На щурах-самках Вістар поставлений експеримент протягом 6 міс. з введенням в раціон генномодифікованої сої. Група тварин з введенням немодифікованої сої стала групою порівняння. Виявили, що морфофункціональний стан наднірникових залоз значно активується в обох групах. У групі з введенням в їжу генномодифікованої сої у частини тварин морфофункціональна активація супроводжується явищами висчерпаності проліферативного потенціалу ендокриноцитів.

Ключевые слова: генномодифицированная соя, питание, надпочечники.

Генномодифицированные растения (ГМО) все шире используются в пищу человека и домашних животных [3]. Но до сих пор нет однозначного ответа на вопрос о возможном негативном влиянии на организм ГМ-продуктов, особенно при длительном их употреблении [6]. Исходя из того, что организм является сложной биологической системой, для поддержания гомеостаза в которой происходят адаптационные процессы на разных уровнях, необходимо изучить морфофункциональные изменения надпочечника при введении в рацион ГМ-сои, что даст возможность оценить уровень стрессогенной нагрузки, формирующейся в связи с этим.

Цель работы – изучить особенности морфофункционального состояния надпочечников самок крыс Вистар при длительном (6 мес.) использовании специфического рациона, содержащего ГМО-сою, в сравнении с использованием в пищу немодифицированной сои.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на половозрелых крысах-самках, взятых в эксперимент в возрасте 3мес. Интактные крысы находились на стандартном рационе вивария (гр.Инт – 6 особей), рацион животных гр.Соя (6 особей) содержал немодифицированную сою сорта «Рядова» в

количестве, покрывающем 50% потребности в белках. Рацион животных гр.ГМО (6 особей) содержал в аналогичном соотношении генномодифицированную сою (сорт «Roundup Ready» линии 40-3-2, которая содержала трансгены *sr4epsps* и регуляторные элементы – промотор *E35S* и терминатор *NOS*). Животные употребляли специфический пищевой рацион в течение 6 месяцев и были выведены из эксперимента путем декапитации под легким эфирным наркозом в возрасте 9 месяцев.

Постановка эксперимента проведена согласно требованиям, предъявляемым к экспериментам на животных (Украина, 2001, Страсбург, 1985).

Для морфологического исследования надпочечники обрабатывались по обычной методике: фиксация в 10% растворе формалине, спиртовая проводка, заливка в парафин и изготовление срезов, взятых из «экваториальной» части железы. Использовались окраски срезов гематоксилином-эозином и галлоцианином по Эйнарсону (суммарные нуклеиновые кислоты). Полученные гистологические препараты изучались с помощью микроскопа «Axiostar-plus» (Zeiss, ФРГ), с последующей морфометрией на компьютерных изображениях микропрепаратов с помощью программы «ВидеоТест» (С-Птб, РФ). Статистический анализ проведен методом

вариационной статистики со сравнением средних результатов путем определения критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех группах животных надпочечники округло-треугольной формы, с четко выраженным делением коры на зоны.

Клубочковая зона коры надпочечников у животных гр.Соя уже, чем в контроле, местами истончена, местами расширена, но малоклеточная, рыхлая, т.е. с пустотами. Изучение количества клеток в поле зрения выявило уменьшение их количества на

единицу площади (табл. 1). Эндокриноциты клубочковой зоны гр.Соя чаще, чем в гр.Инт имеют вакуоли в цитоплазме, в т.ч. крупные, свидетельствующие о запасах холестерина. Изучение размеров ядер эндокриноцитов клубочковой зоны выявило их уменьшение по сравнению с гр.Инт (табл. 2). Данные особенности клубочковой зоны надпочечников самок гр.Соя свидетельствуют о ее подавлении, о гипофункциональном состоянии в связи с наличием в рационе немодифицированной сои. Обращает внимание ярко выраженная камбиальная зона в НП крыс гр.Соя.

Таблица 1

Количество эндокриноцитов в фиксированном участке микропрепарата надпочечника

Группы	Клубочковая зона (s=500 мкм ²)	Пучковая зона (s=500 мкм ²)	Сетчатая зона (s=500 мкм ²)	Мозговое вещество (s=1200 мкм ²)
Гр.Инт	9,8 ± 0,3	4,5 ± 0,1	6,9 ± 0,2	10,0±0,3
Гр.Соя	8,7 ± 0,3*	5,5 ± 0,2*	6,0 ± 0,2 *	10,6 ± 0,3
Гр.ГМО	1 в-т	8,8 ± 0,2*	5,7 ± 0,2*	8,0± 0,3* #
	2 в-т	6,4 ± 0,3* #	4,4 ± 0,2 #	7,6 ± 0,2* #
				11,5±0,5*
				10,5 ± 0,4

Примечание. * - p<0,05 в сравнении с гр.Инт; # - p<0,05 в сравнении с гр.Соя.

Таблица 2

Площадь ядер эндокриноцитов надпочечников (мкм²)

Группы	Клубочковая зона	Пучковая зона	Сетчатая зона	Мозговое вещество
Гр.Инт	15,0 ± 0,3	15,8 ± 0,2	14,3 ± 0,3	19,8 ± 0,6
Гр.Соя	12,2 ± 0,4*	17,4 ± 0,8*	14,2 ± 0,4	23,8 ± 0,9*
Гр.ГМО	1 в-т	12,0 ± 0,3*	14,2 ± 0,3*#	13,0 ± 0,2*#
	2 в-т	16,3 ± 0,4* #	19,5 ± 0,5* #	21,5 ± 1,0* #
				20,0 ± 0,7 #
				27,8 ± 1,1* #

Примечание. * - p<0,05 в сравнении с гр.Инт, # - p<0,05 в сравнении с гр.Соя

Пучковая зона коры надпочечников в этой группе более многоклеточна (табл.1), представлена спонгиоцитами преимущественно со светлыми овальными ядрами и эозинофильной цитоплазмой с небольшим количеством вакуолей. При сравнении с гр.Инт, выявлено увеличение площади ядер спонгиоцитов (табл.2). Т.е. выявлены гипертрофические и гиперпластические изменения в пучковой зоне надпочечников крыс-самок гр.Соя, свидетельствующие о повышенной выработке кортикостерона.

Сетчатая зона коры надпочечников гр.Инт представлена плотно расположенными эндокриноцитами либо с темными гетерохромными ядрами, либо с умеренно светлыми ядрами, с просматривающимся ядрышком. Сетчатая зона надпочечников гр.Соя морфофункционально похожа на гр.Инт, хотя выявляется некоторое уменьшение количества ядер клеток в поле зрения (табл. 1),

возможно, в связи с увеличением объема цитоплазмы этих эндокриноцитов.

Мозговое вещество надпочечников в гр.Соя занимает большую площадь на экваториальных срезах, чем в гр.Инт. Наблюдаются клетки, имеющие крупное светлое ядро и крупные вакуоли в цитоплазме, содержащие инкрет – моноамины; наряду с этим много клеток с гетерохромными ядрами, т.е. функционально неактивных. Однако кариометрически выявлено достоверное увеличение размеров ядер нейроэндокриноцитов надпочечников гр.Соя при аналогичном с гр.Инт количестве нейроэндокриноцитов в поле зрения, что указывает на активацию мозгового вещества надпочечников в связи с наличием в рационе крыс немодифицированной сои.

Оценивая полученные данные, можно предположить состояние активации надпочечников крыс при употреблении в пищу

немодифицированной сои. Повышение активности пучковой зоны коры и мозгового вещества, снижение активности клубочковой зоны коры надпочечников, выявленное в группе животных, употреблявших в пищу сою, можно рассматривать как состояние напряженных приспособительных реакций, происходящих на уровне организма и описываемое Гаркави с соавт. [1] как стрессогенное адаптационное изменение надпочечников.

В гр.ГМО, судя по морфофункциональному состоянию надпочечников, животные разделились на две подгруппы: в одной из них наблюдали картину, похожую на таковую в гр.Соя, а в другой – обнаружены морфологические признаки истощенности адаптационных реакций с рыхлым расположением эндокриноцитов в клубочковой и пучковой зонах, что свидетельствует о преобладании форсированного апоптоза эндокриноцитов над их пролиферацией. Имеющиеся в наличии паренхиматозные клетки клубочковой и пучковой зон коры надпочечников морфофункционально более активны, что объясняется необходимостью скомпенсировать их убыль (табл. 1, табл.2).

В пучковой зоне коры надпочечников во 2-й подгруппе гр.ГМО ядра спонгиоцитов преимущественно зухромные, с просматриваемым одним или несколькими ядрышками. Цитоплазма эозинофильна или мелковакуолизована, что свидетельствует о снижении запаса холестерина и повышении синтеза кортикостерона. Набухшие клетки эндотелия капилляров в этой зоне указывают на повышенное выведение инкрета. Местами встречаются очаги цитолиза (форсированный апоптоз).

Сетчатая зона коры надпочечников, продуцирующая половые стероиды, представлена эндокриноцитами с более крупными и зухромными ядрами, но в меньшем количестве на единицу площади.

В этой же (2-й) подгруппе гр.ГМО мозговое вещество надпочечника микроскопически также имеет вид более активного: нейроэндокриноциты - с крупными овальными ядрами с хорошо просматриваемыми, часто несколькими ядрышками. Цитоплазма интенсивно эозинофильна, с небольшим количеством вакуолей. Запасных клеток мало. Эндотелий синусоид набухший. Морфометрия выявила резкое увеличение размеров ядер клеток и некоторое (недостойное) увеличение их количества в поле зрения, что, очевидно, связано с уменьшением объема цитоплазмы при уменьшении объема запаса инкрета в виде прозрачных вакуолей.

Т.о. введение в рацион дополнительного количества «нового» растительного белка немодифицированной сои и растительного белка генномодифицированной сои вызывает изменения обменных процессов, требующих повышенной

продукции кортикостероидов и катехоламинов, ответственных за реализацию общих адаптационно-приспособительных реакций. Микроскопическая картина клубочковой зоны указывает на торможение продукции минералокортикоидов. Особенно интересным является обнаружение у части животных гр.ГМО микроскопических признаков с морфометрическим подтверждением, указывающих на убыль эндокриноцитов пучковой зоны коры и мозгового вещества, очевидно, в связи с форсированным апоптозом интенсивно работающих гормонпродуцирующих клеток. Гипертрофические процессы на клеточном уровне и гиперпластические – на внутриклеточном какое-то время еще позволяют сохранить необходимый уровень продукции гормонов надпочечников. Затем последует состояние декомпенсации.

Наблюдаемые изменения надпочечников описываются при многих экспериментальных воздействиях, в частности при состоянии стресса их связывают с повышенными потребностями организма в энергетических субстратах (активация липолиза и глюконеогенеза); при старении организма активацию продукции глюкокортикоидов связывают со снижением чувствительности центральных регуляторных звеньев [2]. Введение в рацион питания «новых» белков аналогично стрессогенному воздействию, при этом белки генномодифицированной сои, оказывается, имеют значительно более сильное стрессогенное воздействие, чем белки немодифицированной сои. Кроме того, ранее проведенное авторами биохимическое и морфологическое исследование печени и почек животных в том же эксперименте выявило наличие поврежденных гепатоцитов и канальцевого эпителия, которые при использовании немодифицированной сои полностью регенерировали, а при использовании генномодифицированной сои – потенциал регенерации оказался истощенным [4, 5].

ВЫВОДЫ

1. Замена рациона крыс Вистар на 50% белковой потребности на немодифицированную сою в течение 6 мес. обуславливает в надпочечниках формирование микроскопической картины стимуляции пучковой зоны коры и мозгового вещества.

2. Использование в таких же количествах генномодифицированной сои в течение 6 мес. также оказывает морфофункциональную стимуляцию пучковой и сетчатой зон коры и мозгового вещества, но более сильную, с признаками истощенности.

3. Морфофункциональное состояние клубочковой зоны коры надпочечников в обеих ситуациях можно оценить как торможение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гаркави Л.Х. Антистрессорные реакции и

активационная терапия / Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С./ М.: «ИМЕДИС», 1998. – 565с.

2. Дильман В.М. Четыре модели медицины / В.М. Дильман / Л.: Медицина, 1987. – 288с.

3. Ермакова И.В. Трансгенизация - новый виток эволюции или генная бомба? // Журнал «Эволюция». – 2005. – С. 34-39.

4. Колоусова Н.Г. Патоморфологические изменения в печени крыс при употреблении генномодифицированной сои/ Н.Г. Колоусова, Г.И. Губина-Вакулик, Т.А. Иваненко [и др.] //Актуальні проблеми онкоморфології: матеріали наук.практ. конф. з міжнародною участю та 3 конференції Українського дивізіону інтернаціональної академії

патології, 12-13 травня 2011 р., Харків, Україна/ Харківський нац. мед. університет.-Харків, 2011. - С.100.

5. Amoh Kristin Morphometrical peculiarities of kidney's canalicular epithelium of 2nd generation of rats due to presence of gmo-soya in foods /Abstract book 5 International Scientific Interdisciplinary Conference for medical students and young scientists – Kharkov. – 2012. – P 15-16.

6. De Vendomois G.S. A comparison of the effects of three G M Corn varieties om mammalian health /G.S. de Vendomois, F.Roullier, D.Cellier et al // Int. J. Biol. Sci.- 2009.- №5(7). - P. 706-726.